

Оптимизација на метода на електрофореза на единечни клетки при боење со сребро нитрат (Комет метода)

Наташа Кичукова, Мишко Милев, Милкица Јанева, Викторија Максимова, Татјана Рушкова
Универзитет Гоце Делчев, Факултет за Медицински Науки, Крсте Мисирков, бб, ПОБ 2000, Штип,
Република Северна Македонија
e-mail: natashakichukova10@gmail.com

Вовед

Методата на електрофореза на единечни клетки т.н. Комет метода е една од најчесто користените методи за определување на генотоксичност кај клетките. Уште од 1984 година, Остлинг и Џохансон го прикажале движењето на ДНК веригите кога јадрото е изложено на електрично поле.

Цел

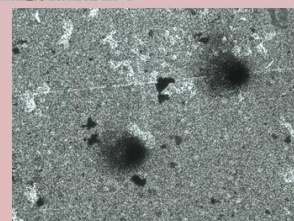
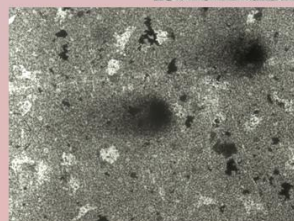
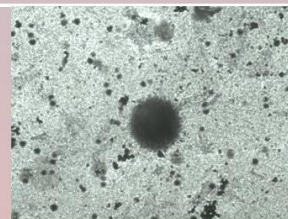
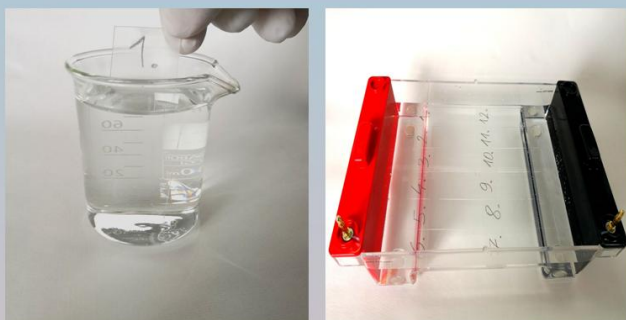
Оптимизирање на методата на електрофореза на единечни клетки со боење со сребро нитрат

Материјали и методи

Лизираниите клетки се инкорпорираат во нискотоплива агароза, нанесена на микроскопско стакленце обложено со нормална агароза. Кога тие се подложени на електрично поле оштетениот дел на ДНК патува кон анодата, а по боењето под микроскоп наликува на комета. Интактниот спирализиран дел од ДНК се наоѓа во „главата“ на кометата, додека „опашката“ го претставува нејзиниот оштетен дел. Степенот на оштетување на ДНК може да се процени преку: мерење на дијаметарот на главата, должината и моментот на опашката.

Резултати

Боењето на кометите со примена на AgNO_3 го развиваме како алтернативен метод на стандардниот со флуоресцентни бои. Оптимизацијата на постапката на Комет методата со боење со сребро покажа многу критични точки кои треба да се земат во предвид кога се користи овој вид на боење. Високата чистота на AgNO_3 и на лабораториската стакларијата, времето за фиксација и за боење, мешањето за време на боењето, свеж раствор за боење и експозицијата на светлина се многу важни и критични параметри во овој метод.



Заклучок

Имајќи ги во предвид овие критични точки, боењето со сребро може прецизно да го квантифицира степенот на оштетување на ДНК притоа користејќи само обичен светлосен микроскоп.